

物种鉴定报告

Species Identification Report

PCR 法物种检测报告

样品信息

样品编号:

| 客户样本编号 | 公司编号 |
|-----------|------|
| CBRH-7919 | |

样品数量: 1

样品性状: 细胞系

检测项目: PCR

送检单位: 厦门逸漠生物科技有限公司

1. 摘要

本项目利用一代 (Sanger) 测序的方法, 利用基因组提取试剂盒对客户提供的样品进行 DNA 提取, 通过 PCR 扩增, 琼脂糖电泳检测, 胶回收等步骤, 对扩增的 PCR 产物进行检测及纯化, 使用美国 ABI 公司生产的 3730XL 测序仪对 PCR 产物进行测序。

2. 样品编号

| 样品编号 | 样品描述 |
|-----------|---------|
| CBRH-7919 | 逸漠库留样细胞 |

3. 实验材料描述

3.1 主要试剂

| 试剂名称 | 试剂来源 | cat.No |
|---------------------|-----------------|----------|
| BM2000 + DNA Marker | 博迈德 | MD102-01 |
| 琼脂糖 | Biowest agarose | |
| 2 × Taq Master Mix | 苏州诺维赞生物 | P111-01 |
| Primer | 铂瑞生物 | |
| 基因组 DNA 提取试剂盒 | 天根生化 | DP304-02 |

3.2 主要仪器及器材

| 仪器名称 | 仪器来源 | cat. No. |
|-------------------|--------|------------|
| PCR 仪 | 西安天隆科技 | Genesy 96T |
| Positive clone 测序 | 铂瑞生物技术 | |

| | | |
|------------|------|--------|
| 稳压 DNA 电泳仪 | 天能公司 | EPS300 |
| 凝胶成像仪 | 培清科技 | JS-780 |
| 移液器 | 大龙公司 | |
| 高速离心机 | 湘仪 | TG16-W |

4. DNA 提取

提取方法详见天根生化基因组提取试剂盒说明书。

4.1 DNA 质量检测

取 5 μ l DNA 溶液 1%琼脂糖、1X TAE 缓冲溶液电泳 (电压 120~180 V) 检测,单一条带说明 DNA 完整无降解,有明显的条带说明浓度可以满足 PCR 要求;

4.2 分光光度计检测浓度和纯度

取 1 μ l 检 OD 值, OD 260/280 在 1.7~2.0, 说明 DNA 质量较好, 小于 1.7 有蛋白污染, 大于 2.0 有 RNA 污染。一般有少量的蛋白与 RNA 污染不影响普通 PCR。

4.3 引物合成

依据上述参考序列, 使用 Snapgene 软件设计 2 条 PCR 扩增引物, 具体的序列信息如下:

| ID | homo | mus | rat |
|-----------|--------|--------|--------|
| 产物大小 (bp) | 391 bp | 150 bp | 196 bp |

5. PCR 扩增

5.1 体系 (50 μ l)

| 名称 | 体积 |
|--------------------------------------|--------------|
| 5*Primerstar Buffer | 10 μ l |
| dNTP (2.5 mM) | 4 μ l |
| Primerstar HS (1 U/ μ l, Takara) | 1 μ l |
| Primer F (10 μ M) | 1 μ l |
| Primer R (10 μ M) | 1 μ l |
| Template DNA (约 100 ng) | 0.2 μ l |
| 补足 ddH ₂ O 至 | 32.8 μ l |

5.2 反应程序:

| 温度 (°C) | 时间 | |
|---------|------|-----------|
| 95 | 3min | |
| 95 | 30s | } 30cycle |
| 60 | 30s | |
| 72 | 30s | |
| 72 | 5min | |

5.3 凝胶电泳检测条带

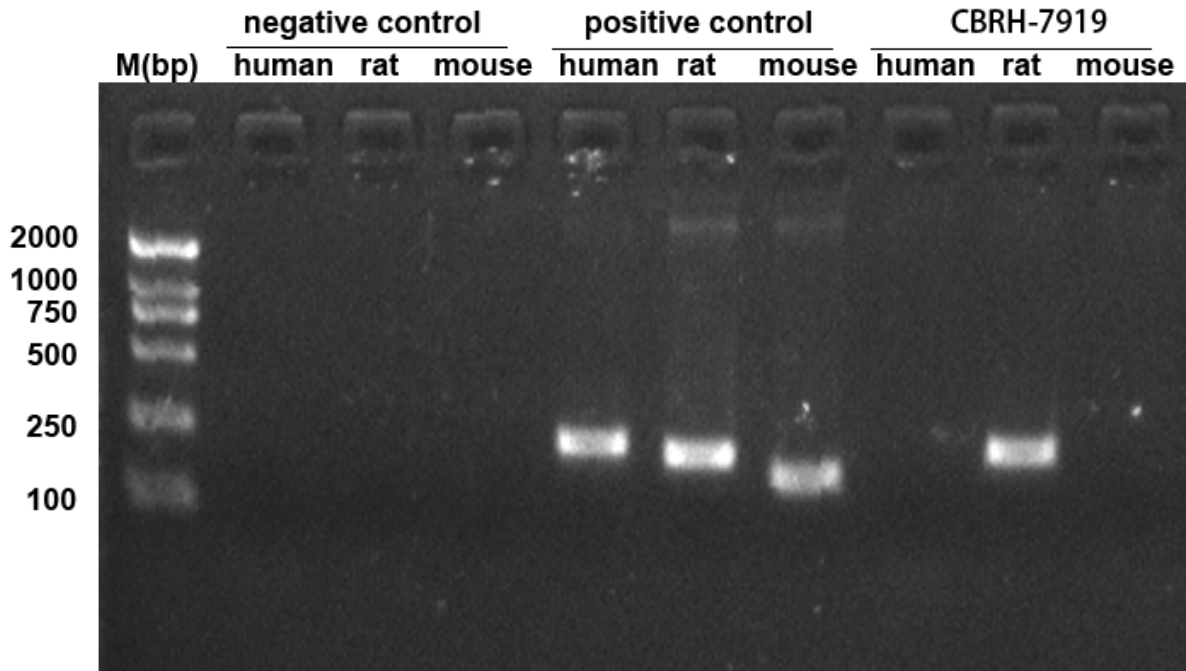
PCR 产物取 5 μ l 1%琼脂糖凝胶电泳, 电泳参数: 150 V, 100 mA, 10~20 min 电泳观察 (见电泳图)。

6. 测序

剩余 45 μ l PCR 产物送测序公司进行一代测序验证, 在 result group 中寻找结果, 并用 sequence analysis 软件进行分析。使用说明: 峰图文件 (.ab1) 可用 Chromas 软件或 SeqMan 软件打开。序列比对可用 SeqMan 软件。

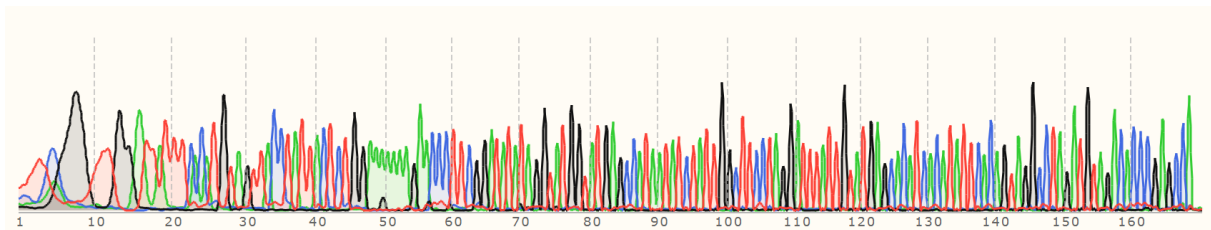
7. 实验结果

7.1 凝胶电泳结果:



7.2 基因分型结果:

>CBRH-7919



| Descriptions | | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy | | | | |
|--|-----------------|-----------------|-------------|-------------|---------|------------|----------|------------|
| Sequences producing significant alignments | | | | | | | | |
| Download Select columns Show 100 | | | | | | | | |
| select all 100 sequences selected | | | | | | | | |
| Description | Scientific Name | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Acc. Len | Accession |
| Mus musculus mitochondrial DNA, complete sequence, cell_line: P29-69-183 | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16300 | AP014540.1 |
| Mus musculus strain M13 mitochondrion, complete genome | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16299 | KP260516.1 |
| Mus musculus strain FVB/NJ mitochondrion, complete genome | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16300 | EE108338.1 |
| Mus musculus mitochondrial DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr... | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 2468 | LC061932.1 |
| Mus musculus strain KK/HlJ mitochondrion, complete genome | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16300 | EE108339.1 |
| Mus musculus domesticus strain STLT isolate IS3782 mitochondrion, complete genome | Mus musculus... | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16297 | OR840771.1 |
| Mus musculus genome assembly, organelle, mitochondrion | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16301 | OX390165.1 |
| Mus musculus mitochondrial DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr... | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 2469 | LC061935.1 |
| Mus musculus mitochondrial DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr... | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 2471 | LC061941.1 |
| Mus musculus clone P29 mitochondrion, complete genome | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16300 | EU312160.1 |
| Mus musculus isolate M.musculus cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene, partial cds: mitochondrial | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 636 | MH727419.1 |
| Mus musculus domesticus isolate Crl:CD1(ICR) mitochondrion, complete genome | Mus musculus... | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16300 | KC663622.1 |
| Mus musculus strain NOD/LtJ mitochondrion, complete genome | Mus musculus | 213 | 213 | 92% | 4e-51 | 100.00% | 16301 | AY533107.1 |

实验结果描述：测序结果匹配到小鼠的基因片段，所以该细胞样品种属为

小鼠。